

DOI: 10.5152/jarem.2019.2247

Manuscript Type: Original Article

Turkish Title: TNBS ile Oluşturulmuş Deneysel Rat Kolit Modelinde Tedavide Karışım Probiyotikler Etkin Midir?

Turkish Running Head: Deneysel Kolit Modelinde Probiyotik Tedavi

Title: Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis?

Running Head: Probiotic Treatment in Experimental Colitis

Authors: Özlem Gül Utku¹, Eylem Karatay², Bilal Ergül¹, Canan Demirtaş³, Özgür Ekinci³, Mehmet Arhan³

Institutions: ¹Kırıkkale Üniversitesi Tıp fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bölümü, Kırıkkale, Türkiye

²İstanbul Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Gastroenteroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Address for Correspondence: Özlem Gül Utku,

E-mail: ozlemgulx@yahoo.com

Received: 22.09.2018

Accepted: 19.03.2019

Cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

ÖZ

Giriş: İnflamatuvar bağırsak hastalıkları (IBH) kronik idiyopatik hastalıklardır. IBH patogenezinin en kabul edilen hipotezi, genetik, çevresel faktörler ve konakçı bağışıklık sistemi arasındaki karmaşık etkileşimlerin, anormal immün yanıtlara ve kronik intestinal inflamasyona yol açmasıdır. Disbiyozis bağırsak mikrobiyota bileşiminde ve işlevinde değişiklikler olarak tanımlanmıştır. Klinik ve deneysel çalışmalar disbiyozisin IBH etiopatogenezinde önemli rol oynadığını desteklemektedir.

Amaç: Bu çalışmada, deneysel kolit modelinde *Enterococcus Faecium*, *Lactobacillus Acidophilus*, *Lactobacillus Rhamnosus*, *Bifidobacterium Bifidum*, *Bifidobacterium Longum* bakterilerinin antiinflamatuvar ve antioksidan etkinlikleri ve steroide göre probiyotiklerin tedavi başarısının değerlendirilmesi amaçlandı.

Yöntemler: Bu çalışmada toplam 24 adet 200-250 gram ağırlığında Wistar-albino dişi rat grubu kullanıldı. Her grupta 6 rat olacak şekilde 4 farklı grup oluşturuldu. Sağlıklı kontrol (Sham: Grup A), trinitrobenzenesulfonik asid (TNBS) koliti (Grup B), metilprednizolon (TNBS + MP: Grup C) ve probiyotik (TNBS + P: Grup D). Sıçanlar 8. günde sakrifiye edildi. Makroskopik ve mikroskopik skorları, doku miyeloperoksidaz (MPO), Malondialdehit (MDA) ve süperoksitdismutaz (SOD) düzeyleri ölçüldü. Gruplar arasında medyan MDA düzeyleri ve medyan SOD düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p < 0,001$). Medyan MPO düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,114$).

Tartışma: Çalışmamız probiyotiklerin antioksidan ve oksidan sistemler arasındaki dengeyi düzenlediğini göstermektedir. Eğer klinik çalışmalar ile desteklenirse probiyotikler IBH'da destek tedavisi olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: IBH, MDA, MPO, SOD, Karışım Probiyotikler

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-Induced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

Abstract

Objective: Inflammatory bowel disease (IBD) is an idiopathic disease associated with changes in the immune system and in the intestinal microbiota. The most accepted hypothesis of IBD pathogenesis is thought to be the abnormal immunological response and chronic intestinal inflammation, which is caused by the complex interactions between genetic, environmental factors and the host immune system. Microbial flora is important in the maturation of the immune system. Dysbiosis is defined as changes in intestinal microbiota composition and function. Clinical and experimental studies support that dysbiosis plays a significant role in the etiopathogenesis of IBD. Probiotics are useful live microorganisms that provide the intestinal balance in the host.

Aim: In this study, we aimed to evaluate the anti-inflammatory and antioxidant activities of *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Bifidobacterium longum* bacteria in the experimental colitis model.

Methods: Twenty-four female Wistar-Albino rats and 30 mg 0.5 ml trinitrobenzenesulphonic acid (TNBS) dissolved in 50% ethanol which induces colitis by intrarectal installation. Rats divided into four groups; healthy control (Sham: Group A), TNBS colitis (Group B), metilprednisolone (TNBS+MP: Group C) and probiotic (TNBS+P:Group D). The rats were sacrificed on 8th day. Macroscopic and microscopic scores, tissue myeloperoxidase (MPO), Malondialdehit (MDA) and superoxide dismutase (SOD) levels were measured.

Results: Macroscopic and microscopic scores levels in Group A were significantly lower than Group B, C and D. Macroscopic and microscopic scores levels in Group C were significantly lower than Group B. Macroscopic scores were statistically similar between Group C and D. There was a statistically significant difference between the groups in terms of median MDA levels and median SOD levels ($p < 0,001$). There was no statistically significant difference between groups in terms of median MPO levels ($p = 0,114$). Median MPO levels were in Group A: 0,27 (0,15-0,30), Group B: 0,44 (0,22-0,61), Group C: 0,28 (0,25-0,50), Group D: 0,30 (0,25-0,37) ($p = 0,114$). Median MDA levels were in Group A: 1,1 (1,0-2,8), Group B: 4,3 (3,1-5,5), Group C: 3,8 (3,2-4,2), Group D: 3,9 (3,1-4,2) ($p < 0,001$). Median SOD levels were

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinçi Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

in Group A:160,7 (150,1-161,7), Group B: 141,6 (137,9-147,3), Group C: 157,6 (155,2-167,7), Group D:164,7 (160,3-168,3) ($p<0,001$).MDA levels were statistically significant difference between each group. These levels in Group B,C and D were significantly higher than Group A; in Group C and D were statistically similar; in Group B were statistically higher than Group C and D ($p<0.001$ & $p=0,047$). SOD levels were statistically significant difference between each group Group B,C and D were significantly lower than Group B; in Group A,C and D were statistically significant difference; in Group D were statistically higher than Group A and C.

Conclusion: Our study showed that probiotics regulate the balance between antioxidant and oxidant systems. Therefore, probiotics can be used as supportive treatment in inflammatory bowel diseases if promoted by clinical trials.

Keywords: IBD,MDA, MPO, SOD, Probiotics

GİRİŞ

Probiyotikler buldukları konaktaintestinal dengeyi sağlayan, yararlı canlı mikroorganizmalardır. Gastrointestinal sistem yararlı veya zararlı milyonlarca bakterinin kolonizasyon yeridir. Asidik karakterde sıvı ve koruyucu sekresyonlarından dolayı mide çok az miktarda bakteri içerir fakat bakterilerin belirli türlerigastrointestinal sistem boyunca göç ederek, bağırsaklara özellikle kolana yerleşirler (1). Feçesin % 20'sini çoğu kolondan gelen bakteriler oluşturur. Normal insanların kolonlarında floranın büyük bir kısmı ve feçesin kuru ağırlığının %60'dan fazlasını bakteriler oluşturur. Kolondakiana bakteri türleri Lactobasillus, Bifidobakteriyum, Eubakteriyum, Streptokokus, Koliformlar, Klostridiyumve Sakromişes türleridir.Sağlıklı bir birey bağırsaklarındayaklaşık 100 trilyon bakteri taşır. Dünyada yaygın olarak yoğurt ve fermente gıdalarla tüketilmekle birlikte, çeşitli diyet takviyeleri ve fonksiyonel gıdalar gibi değişik formlarda bulunur ve kullanılır (2). Mikrobial flora immun sistemin maturasyonuna, besinler ve dışardan alınan patojenik mikroorganizmaları tanıma ve

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

yok etme yeteneğinin oluşmasına katkı sağlar. Kolonik morfolojinin oluşmasında ve sürekli inflamatuvar cevabın kontrolünde önemli role sahiptir. Kolonik mukozaya bariyer oluşturarak mikroorganizma ve allerjenlerin vücuda girişini engeller (3, 4).

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları (IBH) kronik inflamatuvar hastalıklardır. Ülseratifkolit ve Crohn hastalığı olmak üzere iki majör tipi vardır. Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 3,5 milyon insan etkilenmektedir. Her iki hastalığın insidansı tüm dünyada artmasına rağmen, etiyojileri belirsizliğini korumaktadır ve henüz kür sağlayan bir tedavi yöntemi bulunmamıştır (5). IBH patogenezinin kabul edilen hipotezi, genetik, çevresel faktörler ve konakçı bağışıklık sistemi arasındaki karmaşık etkileşimlerin, anormal immün yanıtlara ve kronik intestinal inflamasyona yol açmasıdır. Disbiyozis bağırsak mikrobiyota bileşiminde ve işlevinde değişiklikler olarak tanımlanmıştır. Klinik ve deneysel çalışmalar disbiyozisin IBH etiopatogenezinde önemli rol oynadığını desteklemektedir (6). Son zamanlarda bağırsak mikrobiyota bileşiminin probiyotikler veya fekaltransplantasyon ile değiştirilmesi destek ve tedavi edici yöntemler arasında ilgi odağı olmuştur.

Bu çalışmada, deneysel olarak oluşturulmuş kolit modelinde *Enterococcus Faecium*, *Lactobacillus Acidophilus*, *Lactobacillus Rhamnosus*, *Bifidobacterium Bifidum*, *Bifidobacterium Longum* bakterilerinin antinflamatuvar ve antioksidan etkinlikleri ve steroide göre probiyotiklerin tedavi başarısının değerlendirilmesi amaçlandı.

YÖNTEMLER

Bu çalışma Deneysel Hayvanlar Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Deneysel Hayvanlar Laboratuvarında yapılmıştır. Patolojik incelemeler Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada toplam 24 adet 200-250 gram ağırlığında Wistar-albino dişi rat grubu kullanıldı. Deneysel öncesi tüm hayvanlar standart yem ve su ile beslendi. Her grupta 6 rat olacak şekilde 4 farklı grup oluşturuldu. Hayvanlar deneysel süresince standart nem, ışık (12 saat gün ışığı/12 saat karanlık) ve ısı koşullarında (22-24 0C) bulunduruldu ve standart rat yemi ile beslendi. Kaprofajiyi önlemek için kafes içine tel altlıklar yerleştirildi. Her bir ratın yediği

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

yem ve içtiği sıvı miktarının belirlenmesi için ratlar tekli kafeslere konuldu. Ağırlık değişimlerinin belirlenmesi amacıyla çalışma boyunca hergün ratların ağırlıkları kaydedildi.

Ratlara anestezi, intramusküler Ketaminehydrochloride (Ketalar, Parke Davis ve Eczacıbaşı, İstanbul) 50 mg/kg dozunda+ Xylazinehydrochloride (Rompun, Bayer HealthCare) 5 mg/kg enjekte edilerek sağlandı. Deneysel kolit oluşturmak için 30 mg (80 mg/kg) TNBS (92823, picrylsulfonicacidsolution +%50 etanol karışımı) kullanıldı. trinitro-benzen sülfonik asit (TNBS) Sigma'dan (Sigma, La Verpaille- re, Fransa) satın alınmıştır.

Grup A (n=6): Sham Grubu; İntrarektal 7 gün 2 mL serum fizyolojik alan grup,

Grup B (n=6): TNBS ile kolit oluşturulan ve herhangi bir tedavi almayan grup,

Grup C (n=6): TNBS ile kolit oluşturulduktan 24 saat sonra prednol 2mg/gün oral verilen grup

Grup D (n=6): TNBS ile kolit oluşturulduktan 24 saat sonra günde 1 saşe oral probiyotik (Enterococcus Faecium, Lactobacillus Acidophilus, Lactobacillus Rhamnosus, Bifidobacterium Bifidum, Bifidobacterium Longum) günde 3 doz şeklinde gavajla 7 gün boyunca verildi).

Semptomların Gözlemlenmesi

Hayvan modelinin kurulmasından sonra, sıçan dışkıları günlük olarak toplandı. Dışkı, kan, aktivite, kürk, gıda alımı ve kilo dahil olmak üzere sıçanların genel durumu gözlemlendi.

Cerrahi Yöntem: İntramuskuler olarak 50 mg/kg ketamin+5 mg/kg xylazine uygulanması ile sağlanan anestezi sonrası, kolit modellerinde ve kontrol grubunda ksifopubikmedian kesi ile laparotomi yapıldı, eksplorasyon gerçekleştirildi. Takiben transvers kolonun ortasından rektum distalde mümkün olan en aşağı seviyeden transekte edildi ve yaklaşık 10 cm'lik kolon segmenti çıkarıldı. Çıkarılan kolon dokusu longitudinal olarak iki eşit parçaya ayrıldı. Kolon örneğinin bir parçası %10 formaldehit içinde tespit edildi. Diğer yarısı işlem gününe kadar -80 C° derin

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

dondurucuda (Sanyo MDF-U70V) saklandı. Derin anestezi altında (ketamin 45 mg/kg +xylasin 5mg/kg IM intrakardiak) 5 cc'lik kan alınarak ratlarsakrifiye edildi.

Histopatolojik İnceleme Yöntemleri

Makroskopik Değerlendirme

Çıkarılan bağırsak bölümlerinin longitudinal biçimde açılmasını takiben, hızla serum fizyolojik ile yıkanarak, gruplara ve tedaviye kör bir patoloji uzmanı tarafından Millar ve ark.(7) tariflediği şekilde makroskopikskorlamaları her bir denek için ayrı ayrı yapıldı ve grup ortalamaları hesaplandı.

0 = Normal mukoza

1 = Sadece mukozaleritem

2 = Hafif mukozal ödem, az miktarda kanama ya da küçük erozyonlar

3 = Orta derecede ödem, kanayan ülser ya da erozyon

4 = Ciddi ülser, erozyon, ödem ve doku nekrozunun varlığı

Mikroskopik Değerlendirme

% 10 formalin içinde tespit edilmiş kolon segmentleri, parafin bloklara gömüldü. Bu bloklardan 5 µ kalınlığında alınan kesitler hematoksilin-eosin boyasıyla boyandı. Hazırlanan preparatlar gruplar için gruplara kör bir patoloji uzmanı tarafından ışık mikroskopu altında incelenerek mikroskopik skorlama yapıldı. Skorlama için Ackerman ve arkadaşlarının (8) kullandığı skorlama sistemi modifiye edilerek her hayvan için ayrı ayrı hesaplandı ve her grubun ortalama skoru elde edildi.

A: Nekrozun derinliği: yok = 0; mukozal = 1; mukozal ve submukozal = 2; mukozal, submukozal ve muskularispropria = 3; tüm kolon duvarında = 4,

B: Nekrozun genişliği: yok = 0; küçük bir alan = 1; orta derecede bir alan = 2; büyük bir alan = 3; yaygın = 4,

C: İnflamasyonun derecesi: yok = 0; minimal = 1; ılımlı = 2; orta derecede = 3;ciddi= 4,

D: İnflamasyonun genişliği: yok = 0; mukozal = 1; mukozal ve submukozal = 2; mukozal, submukozal ve muskularispropria' da = 3; tüm kolon duvarında = 4.

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

Doku MPO Aktivitesi için Dokuların Hazırlanması ve MPO Ölçümü

H₂O₂'nin homogenat tarafından oksitlenerek O-dianisidinin redüklenmesi ve redükte O-dianisidinin 410 nm'de ölçülmesi esasına dayanır. 130 mg barsak mukozası 1.3ml soğuk 20mM'lık EDTA ile homojenize edildi. Homojenattan 1'er mL alınıp ependorf tüplerine konuldu ve 20 000 g de 15 dk. +4 derecede santrifüj edildi. Süpernatant atılıp **PELLET**, 1.3 mL 50mM'lık tampon (pH 6) ile 60 snsonike edildi, sonra 20.000 g de 15 dk. +4 derecede tekrar santrifüj edildi. Süpernatant yeni ependorflara aktarıldı. Bu süpernatandan MPO düzeyi çalışıldı. 410 nm'de optik dansite köre karşı okundu. 1 Ünite (Ü)= 37°C'de dk. oluşan optik dansite değişimi olarak kabul edildi. Spesifik aktivite= U/g doku olarak değerlendirildi.

MDA Düzeyi, SOD Aktivitesi için Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi

Doku örnekleri 1/10 oranında fosfat buffersalin (pH:7,4) ile buz içinde, soğukta homojenize edildi. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde 15,000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilip, süpernatantlardan doku malondialdehit düzeyi ve doku SOD aktivitesi tayini yapıldı.

Barsak Dokusu Malondialdehit (MDA) Analizi

Doku MDA düzeyleri Ohkawa ve ark.'nın tarif ettiği yöntemle göre tayin edildi. Bu yöntemin ilkesi; homojenattaki proteinlerin sodyum dodesil sülfat (SDS) ile bağlanmasından sonra örnekte bulunan MDA'nın ortam pH'sı 3,5 olduğu koşullarda tiobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu komplekse bağlı kırmızı rengin spektrofotometrik ölçümüne göre yapıldı.

Kolon Mukozası Dokusunda Süperoksid Dismutaz(SOD) Analizi

SOD aktivitesi, Yi-Sun'un tanımladığı, ksantinoksidaz ile O₂^{•-} oluşturması ve bunun da NBT ile renkli bir bileşik oluşturarak bu renk şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçüldü. Ortamdaki SOD aktivitesi ne kadar fazla ise O₂^{•-}'yi ortadan kaldıracığı için oluşan rengin şiddeti o kadar az olacaktır.

İstatistiksel Analiz

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

Verilerin istatistiksel analizi Statistical Package for Social Sciences versiyon 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki makroskopik skorlar, mikroskoik skorlar ve biyokimyasal parametrelerin analizi için Kruskal Wallis testi ve Mann-Whitney U-testi post hoc test olarak kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak ifade edildi. Gruplardaki değişkenlerin ortalamaları Boxplot seçilerek çizildi. Sonuçlar arasındaki $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Grup A'daratlarda kilo kaybı, tüylerde renk değişimi ve dışkı değişimi olmadı deney süresince gıda alımları normaldi. Hayvan modelinin gelişmesinden sonra grup B, C, D'de iştah azalması, dışkı sıklığında artma, kanlı dışkı, kaba tüylü görünüm oluştu.

Gruplar arasında medyan MPO düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,114$).

Gruplar arasında medyan MDA düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,002$) söz konusu farka neden olan durumlar incelendiğinde Grup A'ya göre sırasıyla; Grup B, C ve D'nin medyan MDA düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,001$). Aynı zamanda Grup B'ye göre Grup C ve D'nin medyan MDA düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p < 0,001$ ve $p=0,047$). Grup C'ye göre D'nin de medyan MDA düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,047$) (Şekil 1).

Gruplar arasında medyan SOD düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p < 0,001$) söz konusu farka neden olan durumlar incelendiğinde Grup A'ya göre Grup B'nin medyan SOD düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşük, Grup D'nin medyan SOD düzeyi ise istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,001$). Aynı zamanda Grup B'ye göre Grup C ve D'nin medyan SOD düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,001$). Grup C'e göre D'nin de medyan SOD düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,001$). Grup A ile Grup C arasında ise medyan SOD düzeyleri istatistiksel olarak benzerdi ($p=0,106$) (Tablo 1).

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

Grup A içerisinde 1.güne göre 8.gün vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmedi. Grup B içerisinde 1.güne göre 8.gün vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü ($p<0,001$). Grup C içerisinde 1.güne göre 8.gün vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü ($p<0,001$). Grup D içerisinde 1.güne göre 8.gün vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü ($p<0,001$).

Gruplar arasında kilo kaybı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p<0,001$) söz konusu farka neden olan durumlar incelendiğinde Grup A'ya göre sırasıyla; Grup B, C ve D'de ortalama kilo kaybı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,001$). Grup B ile Grup C arasında, Grup B ile Grup D arasında, Grup C ile Grup D arasında kilo kaybı ortalamaları istatistiksel olarak benzer bulundu ($p=0,550$; $p=0,077$ ve $p=0,608$) (Tablo 2).

Gruplar arasında medyan makroskopi skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p<0,001$) söz konusu farka neden olan durumlar incelendiğinde Grup A'ya göre sırasıyla; Grup B, C ve D'nin medyan makroskopi skoru istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,001$). Aynı zamanda Grup C ve Grup D'ye göre Grup B'nin medyan makroskopi skoru istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,002$ ve $p<0,001$). Grup C ve Grup D arasında ise medyan makroskopi skorları istatistiksel olarak benzer bulundu ($p=0,093$) (Tablo 3) .

TARTIŞMA

Probiyotiklerin bağırsak mukozasında düzenleyici etkileri vardır. Bu etkiler reseptör antagonizmi, reseptör ekspresyonu, adaptör proteinlerin bağlanması ve ekspresyonu, negatif regülatör sinyal moleküllerinin ekspresyonu, mikroRNA'ların indüklenmesi, endotoksin toleransı ve bağışıklık sistemini modüle etmek için immünomodülatör proteinlerin, lipidlerin ve metabolitlerin salgılanmasının uyarılmasından oluşmaktadır. Probiyotiklerin immun sistem üzerine sadece aktive edici etkileri yoktur aynı zamanda baskılayıcı etkide oluştururlar. İmmun sistem üzerine direk veya indirek etki ile hemostaz, inflamasyon ve immunopatoloji yollarını etkileyebilir (1). Probiyotiklerin testinalepiteli geçerek payer plaklarındaki immünomodülatör olan M hücrelerine ulaşırlar. M hücreleri probiyotik bakterileri ve onların çözünür proteinlerini mukozallenfoid dokuya iletir ve immunregülasyonu başlatır. Antimikrobiyal aktivite artar ve sonuç olarak mukozallgA artar. Mukozada yerleşik goblet hücrelerini aktive ederek mukus

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

salgısını uyarır, epitele patojenlerin tutunmasına ve dokuya yerleşmesine engel olur. Epitel hücreleri arası bağlantıları güçlendirerek mukozal bütünlüğü artırır. Lipopolisakaritlerin CD 14 reseptörüne bağlanmasını inhibe ederek NF- κ B aktivasyonunu ve proinflamatuvarsitokinlerin üretimini azaltır. Laminapropriada yerleşik B ve T lenfosit fonksiyonları üzerine düzenleyici etkileri vardır. Probiyotiklerin testinalinflamasyonun oluşmasında merkezi rol oynayan TNF- α ve IFN- γ sekresyonunu azaltırlar. Regülatuar T hücreleriniIL-10 ve TGF- β aracılığı ileuyarırlar. Böylece inflamasyon üzerine düzenleyici etki gösterirler. Laktobasillus ve bifidobakterium türleri oldukça yaygın probiyotik türleridir ve gastrointestinal sistemde doğal olarakda bulunurlar. Bu bakteriler sindirim sürecine yardımcı olan faydalı bakterilerdir (9).

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları remisyon ve aktivasyonlarla seyreden kronik inflamatuvarhastalıklardır. İBH'ninetiyohtagonezi hala tam olarak bilinmemektedir. Genetik, çevresel faktörler, luminalmikroflora ve immun sistem arasındaki karşılıklı etkileşim sonucu ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Antibiyotikler ve immunmodülatör ilaçlar bu hastalıkların tedavisinde önemli yere sahip olmakla beraber, IBH için ideal tedavi yöntemi hala tartışılmaktadır. Son yıllarda, bağırsak mikrobiyotası değişimlerinin birçok gastrointestinal hastalığa yatkınlığı tetiklediğine dair şüpheler artmıştır. Bunun sonucunda da dikkatler probiyotiklerin tedavide kullanılmasına yoğunlaşmıştır. TNBS ile oluşturulan kolit modellerinde ve IBH'lı hastalarda yapılan çok sayıdaki çalışma daprobiyotiklerin antiinflamatuvar etkinlikleri doğrulanmıştır (4, 9, 10). Probiyotiklerin İBH semptomlarını nasıl azalttığı ile ilgili mekanizmalar bilinmemesine rağmen, gastrointestinal sistemdeki bakterilerin kompozisyonun değişiminde rol oynadıkları, patojen mikro organizmalar ile epitele tutunmada yarışa girerek onların infeksiyon oluşumunu engelledikleri, mukozalimmun hücrelerin fonksiyonunu düzenledikleri, bakteriosin, hidrojen peroksit, asetik asit, laktik asit gibi antimikrobiyal faktörlerin oluşumunu uyararak patojen mikropların çoğalmasını inhibe ettikleri, epitel arası bağlantıları artırıp mukozal bütünlüğü sağlayarak mukozanın bariyer fonksiyonlarını artırıcı etki gösterdikleri ve T-hücre apoptozisini indükledikleri bilinmektedir (11).

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-Induced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

Bu çalışmada kronik inflamasyon oluşturmaları, spontanremisyon gelişmemesi, IBH patogenezi benzer inflamasyon oluşması nedeni ile TNBS ile oluşturulmuş kolit modelini tercih ettik. Takiben, sıçanlardan alınan kolon örneklerini mikroskopik ve makroskopik olarak inceledik. Herhangi bir nedenle nötrofillerin, makrofajların, lenfositlerin, mast hücrelerinin aktivasyonu ve dokuda oksidatif stres sonucu oluşan reaktif oksijen metabolitleri (ROS) oluşumu mukozal bozulmaya ve ülserasyona yol açması bağırsak inflamasyonunun patogenezi oluşturur. Bu nedenle biz bu çalışmada inflamasyon, oksidatif stres ve fibrotik belirteçler olan, SOD, MPO, MDA doku düzeylerini belirledik ve grupları bu moleküllerin doku düzeyleri açısından birbirleri ile karşılaştırdık. Bu şekilde inflamasyonun çok erken döneminde mukozada var olması beklenen inflamatuvar ve antioksidan belirteçler üzerinde probiyotiklerin etkilerini araştırdık.

Sham grubu (grup A), kontrol grubu (grup B), steroid tedavisi alan grup (grup C), probiyotik alan grup (grup D) 1. ve 8.gün kilo farkı yönünden karşılaştırıldığında grupların kendi içerisinde 1. ve 8.gün kilo ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu. Gruplar kendi arasında karşılaştırıldığında sham grubu ile kolit oluşturulan gruplar arasında kilo kaybı açısından anlamlı farklılık mevcut iken, kontrol grubu, standart grup ve test grubu arasında kilo kaybı istatistiksel olarak benzer bulundu. Buda deneklerin homojen seçildiğini desteklemekteydi. Bu durum kolit indüksiyonunun 24 saat öncesinden itibaren sıçanlara yem verilmemesi, ayrıca İR TNBS verilmesi dolayısıyla anestezi alan sıçanların oral alımlarının azalmasına bağlı olabilir.

Kolit oluşturulmuş gruplar, sham grubu ile karşılaştırıldığında, kolonun makroskopik görünümü belirgin farklılık göstermekte idi. Kolit oluşturulmuş gruplarda kolon nekroze, ödemli, rijit görünümde idi ve duvar kalınlıkları artmıştı. Kolit oluşturulmuş gruplarda uterus kolona yapışmış, dalak boyutları küçük ve pankreas hiperemik görünümdeydi. Sham grubunda kolon makroskopik ve mikroskopik olarak tamamen normal görünümdeydi, uterus, dalak ve pankreasta kolit oluşturulan gruplarda izlenen patolojik özellikler izlenmedi. Kolit gruplarında mikroskopik olarak belirgin kolonik inflamasyon, erezyon, ülserasyon, nekroz mevcutken,

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-Induced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

sham grubuna ait preparatlarda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Bu farklılık bize TNBS'nin kronik kolit modeli oluşturmakta etkin bir kimyasal ajan olduğunu doğrulamıştır.

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında ve deneysel kolitte inflamatuvar süreç; nötrofil, monosit ve lenfosit gibi lökositlerin kolon mukozasına infiltrasyonu ile oluşur. Lökositler serbest oksijen radikallerinin ana kaynağıdır. Reaktif oksijen radikalleri, lipidmembranlarınperoksidasyonu, protein denaturasyonu ve DNA hasarı yaparak hücre ve doku düzeyinde hasara yol açarlar. MPO nötrofillerde bulunan, azurofilik granüllerden en sık salınan enzimdir (12). İnflamasyonlu dokuda nötrofilinfiltrasyonu, MPO enzimi aracılığıyla, güçlü sitotoksikoksidanların ortaya çıkmasını kolaylaştırır (13). Yapılan çalışmalarda MPO aktivitesinin, TNBS kolitindeki doku hasarının ciddiyeti ile korele olduğu ve kolit gruplarında kontrol gruplarına göre daha fazla yükseldiği ayrıca nötrofilinfiltrasyonunun bir belirteci olduğu gösterilmiştir (13, 14). Karmeli ve ark. (15) kolit modeli oluşturdukları sıçanlarda kolit gruplarına göre tedavi gruplarında MPO aktivitelerini araştırmışlar ve nötrofilinfiltrasyon ve aktivasyonunun önemli rol oynadığını bunun da dokudaki MPO düzeyi ile belirlendiğini öne sürmüşlerdir. Karmeli ve ark. (16) sıçanlardaki kolit modelinde COX-2 inhibitörlerinin etkileri karşılaştırılmış ve tedaviyle MPO aktivitelerinin kolit modelindeki deneklere göre %61 azaldığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda steroid alan grup, probiyotik alan grubun MPO düzeyi sham grubuna çok yakın değerlerde idi. Probiyotik alan grubun MPO düzeyi steroid alan gruptan yüksek bulundu. Deneysel kolit modelinde MPO düzeyi diğer gruplara göre yüksek olmasına rağmen istatistiki anlamlı farklılık bulunmadı. Gruplar arasında MPO değerlerinde anlamlı farklılık bulunmamasına rağmen, MPO değerlerinin sham ve tedavi grubunda kolit modeline göre düşük değerlerdeydi.

Malondialdehit artışı dokularda lipit peroksidasyonun klinik ve deneysel çalışmalarda en önemli laboratuvar göstergesidir (17).Akut inflamasyonda aktive nötrofiller dolaşımdan ayrılarak bağırsağın mukoza ve submukozasına girer ve inflamatuvar hasara katkıda bulunan lipit mediatörlerin, laktoferrin, proteazlar, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin aşırı üretimine neden olur (18). Erman A. ve ark. (19) asetik asit ile oluşturdukları kolit modelinde ilioprostun doku MDA düzeylerini anlamlı şekilde düşürdüğünü gösterdiler. Bizim

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

çalışmamızda sham grubuna göre kolit grubunda ve kolit oluşturulup tedavi alan gruplarda MDA düzeyi anlamlı olarak yüksekti ve probiyotik alan grupta MDA düzeyi steroid alan gruba göre daha düşüktü ve bu durum istatistiki olarak anlamlıydı. MPO ve MDA düzeyleri değerlendirildiğinde steroid kadar olmasada kontrol grubuna göre değerlerin düşük olması probiyotiklerin antiinflamatuar etkinliğinin olabileceğini destekler nitelikteydi.

Süperoksiddismutaz (SOD), süperoksit anyonlara karşı majör savunma sistemidir. SOD süperoksidin hidrojen perokside dönüşümünü katalizler. Oksidan moleküllere karşı primer koruyucudur. Üç tür SOD tespit edilmiştir. Mitokondride bulunan (Mn-SOD), sitozolde bulunan (Cu, Zn-SOD), ekstraselüermatrikste bulunan (EC-SOD). EC-SOD endotel ve stromal hücrelerden salınır IBH hastalarında düşme eğilimindedir. Cu, Zn-SOD dominant olarak epitelden salınır ve inflamasyonda düşer. IBH hastalarında plazma ve doku seviyesi düşüktür. Normal barsak mukozasında SOD aktivitesi karaciğer ve akciğere oranla düşük oranlarda bulunmaktadır. Bu seviye inflamatuvar durumlarda daha da düşer (20). Kuralay ve ark. (21), deneysel kolit modelinde SOD seviyelerinin oksidatif strese cevap olarak azaldığını göstermişlerdir. Yamada ve ark. (22) TNBS ile oluşturdukları kolit modelinde SOD aktivitesini düşük bulmuşlardır. Patel ve ark. (23) yaptığı deneysel çalışmada PAR-2agonistitripsin TNBS ile uyarılan kolit modelinde İR olarak 500mg/kg, 1mg/kg, 5mg/kg olarak 3 gruba verilmiş sham grubu ve yalnızca TNBS verilen gruplar karşılaştırılarak MPO, MDA, SOD düzeylerine bakılmış 5mg/kg uygulanan grupta oksidatif enzimler, makroskopik skor ve mikroskopik skor yüksek bulunurken, antioksidan enzim düzeyleri düşük bulunmuş. Çalışmamızda gruplar arasında SOD düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Sham grubuna göre, kolit oluşturulan tedavi almayan grubun medyan SOD düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşük, probiyotik alan grubunun medyan SOD düzeyi ise istatistiksel anlamlı olarak diğer gruplara göre daha yüksekti. Ayrıca dikkat çekici olarak SOD düzeyi probiyotik alan grupta sham grubuna oranla bile daha yüksekti. Bu durum probiyotiklerin antioksidan etkinliğini destekler nitelikteydi.

Çalışmamız probiyotiklerin antioksidan ve oksidan sistemler arasındaki dengeyi düzenlediğini desteklemektedir. Sonuç olarak probiyotikler özellikle antioksidan etkileri ile klasik tedaviyi

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

destekleyici tedavi olarak kullanılabilir. Ancak probiyotiklerin mikrobiyotadaki değişiklikler ile mukozal savunma sistemlerini düzenlediğini ve tedavide etkin olabileceğini gösterecek klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Yousefi B, Eslami M, Ghasemian A, Kokhaei P, Salek Farrokhi A, Darabi N. Probiotics importance and their immunomodulatory properties. *J Cell Physiol* 2018.
2. Rhee SH, Pothoulakis C, Mayer EA. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009;6:306-314.
3. Sartor RB. Does *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis cause Crohn's disease? *Gut* 2005;54:896-898.
4. Damaskos D, Kolios G. Probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: microflora 'on the scope'. *Br J Clin Pharmacol* 2008;65:453-467.
5. Verstockt B, Ferrante M, Vermeire S, Van Assche G. New treatment options for inflammatory bowel diseases. *J Gastroenterol* 2018.
6. Nishida A, Inoue R, Inatomi O, Bamba S, Naito Y, Andoh A. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin J Gastroenterol* 2018;11:1-10.
7. Millar AD, Rampton DS, Chander CL, Claxson AW, Blades S, Coumbe A, Panetta J, et al. Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut* 1996;39:407-415.
8. Ackerman Z, Karmeli F, Cohen P, Rachmilewitz D. Experimental colitis in rats with portal hypertension and liver disease. *Inflamm Bowel Dis* 2003;9:18-24.
9. Zheng L, Gao ZQ, Wang SX. A chronic ulcerative colitis model in rats. *World J Gastroenterol* 2000;6:150-152.
10. Wan YM, Zhu YQ, Xia B, Luo J. Treating TNBS-induced colitis in rats with probiotics. *Turk J Gastroenterol* 2011;22:486-493.
11. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr* 2006;83:1256-1264; quiz 1446-1257.
12. Khairy H, Saleh H, Badr AM, Marie MS. Therapeutic efficacy of osthole against dinitrobenzene sulphonic acid induced-colitis in rats. *Biomed Pharmacother* 2018;100:42-51.
13. Girgin F, Karaoglu O, Erkus M, Tuzun S, Ozutemiz O, Dincer C, Batur Y, et al. Effects of trimetazidine on oxidant/antioxidant status in trinitrobenzenesulfonic acid-induced chronic colitis. *J Toxicol Environ Health A* 2000;59:641-652.
14. Peran L, Camuesco D, Comalada M, Nieto A, Concha A, Adrio JL, Olivares M, et al. *Lactobacillus fermentum*, a probiotic capable to release glutathione, prevents colonic inflammation in the TNBS model of rat colitis. *Int J Colorectal Dis* 2006;21:737-746.
15. Domek MJ, Iwata F, Blackman EI, Kao J, Baker M, Vidrich A, Leung FW. Anti-neutrophil serum attenuates dextran sulfate sodium-induced colonic damage in the rat. *Scand J Gastroenterol* 1995;30:1089-1094.

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinçi Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-Induced Experimental Colitis? *JAREM* 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

16. Karmeli F, Cohen P, Rachmilewitz D. Cyclo-oxygenase-2 inhibitors ameliorate the severity of experimental colitis in rats. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:223-231.
17. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990;186:421-431.
18. Wyllie AH. Apoptosis: an overview. *Br Med Bull* 1997;53:451-465.
19. Aytac E, Teksoz S, Saygili S, Tortum OB, Yavuz N, Sozer V, Goksel S, et al. Iloprost reduces colitis induced oxidative stress: An experimental study in rats. *Turk J Gastroenterol* 2013;24:224-229.
20. Kruidenier L, Kuiper I, van Duijn W, Marklund SL, van Hogezaand RA, Lamers CB, Verspaget HW. Differential mucosal expression of three superoxide dismutase isoforms in inflammatory bowel disease. *J Pathol* 2003;201:7-16.
21. Kuralay F, Yildiz C, Ozutemiz O, Islekel H, Caliskan S, Bingol B, Ozkal S. Effects of trimetazidine on acetic acid-induced colitis in female Swiss rats. *J Toxicol Environ Health A* 2003;66:169-179.
22. Grisham MB, Volkmer C, Tso P, Yamada T. Metabolism of trinitrobenzene sulfonic acid by the rat colon produces reactive oxygen species. *Gastroenterology* 1991;101:540-547.
23. Patel M, Patel M, Shah G. Investigation of Possible Role of the PAR-2 Receptor in Intestinal Inflammation. *J Young Pharm* 2010;2:54-58.

Tablo 1. Gruplara göre inflamasyon markerlerine ait ölçümleri

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? *JAREM* 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

Gruplar	MPO (U/g doku)	MDA (umol/g doku)	SOD (U/g doku)
Grup A (Kontrol)	0,27 (0,15-0,30)	1,1 (1,0-2,8) ^{a,b,c}	160,7 (150,1-161,7) ^{a,c}
Grup B (TNBS)	0,44 (0,22-0,61)	4,3 (3,1-5,5) ^{a,d,e}	141,6 (137,9-147,3) ^{a,d,e}
Grup C (TNBS+MP)	0,28 (0,25-0,50)	3,8 (3,2-4,2) ^{b,d,f}	157,6 (155,2-167,7) ^{d,f}
Grup D(TNBS+P)	0,30 (0,25-0,37)	3,9 (3,1-4,2) ^{c,e,f}	164,7 (160,3-168,3) ^{c,e,f}
p-değeri	0,114†	0,002†	<0,001†

† Kruskal Wallis testi, a: Grup A ile Grup B arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), b: Grup A ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), c: Grup A ile Grup D arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), d: Grup B ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), e: Grup B ile Grup D arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), f: Grup C ile Grup D arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$). MP: metilprednizolon P: Probiyotik

Tablo 2. Gruplara göre 1. ve 8.gün vücut ağırlıkları

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

	1.Gün	8.Gün	p †	Değişim	p ‡
Vücut Ağırlığı					<0,001
Grup A	227,3±6,8	224,0±6,6	0,118	-3,3±1,2 ^{a,b,c}	
Grup B	233,7±9,2	176,7±14,0	<0,001	-57,0±14,0 ^a	
Grup C	226,1±9,4	178,3±10,2	<0,001	-47,8±18,1 ^b	
Grup D	230,0±8,9	190,7±13,0	<0,001	-39,3±6,0 ^c	

† Bağımlı t-testi, gruplar içerisinde 1.gün ve 8.gün vücut ağırlıkları arasında yapılan karşılaştırmalar, ‡ One-Way ANOVA, gruplar arasında 1.güne göre 8.günde vücut ağırlığında meydana gelen değişimler yönünden yapılan karşılaştırmalar, a: Grup A ile Grup B arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), b: Grup A ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), c: Grup A ile Grup D arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001).

Tablo 3. Gruplara göre makroskopi skorları

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

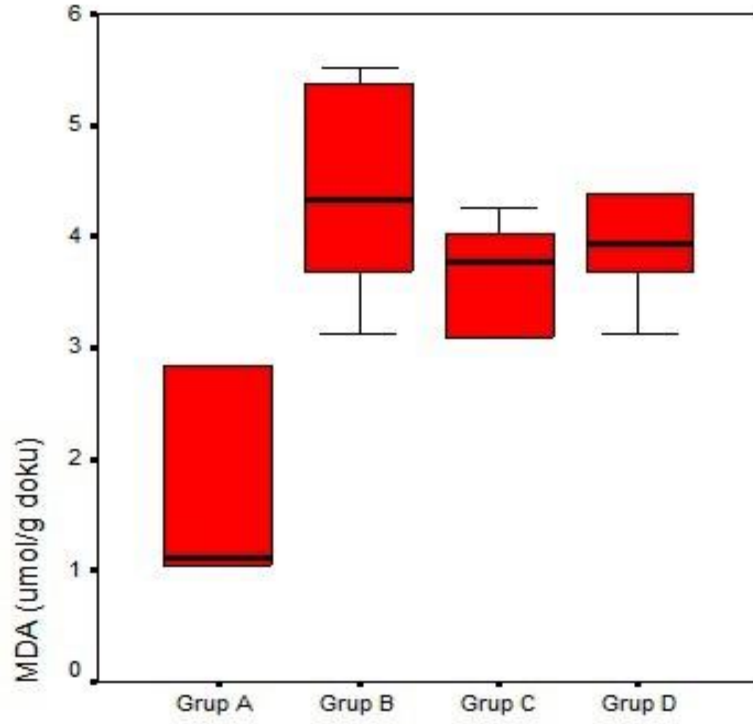
©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org

Gruplar	Makroskopi Skoru
Grup A	0 (0-0) ^{a,b,c}
Grup B	3,5 (2-4) ^{a,d,e}
Grup C	2 (1-3) ^{b,d}
Grup D	2 (2-3) ^{c,e}
p-değeri	<0,001†

† Kruskal Wallis testi, a: Grup A ile Grup B arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), b: Grup A ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), c: Grup A ile Grup D arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), d: Grup B ile Grup C arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,002$), e: Grup B ile Grup D arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$).

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

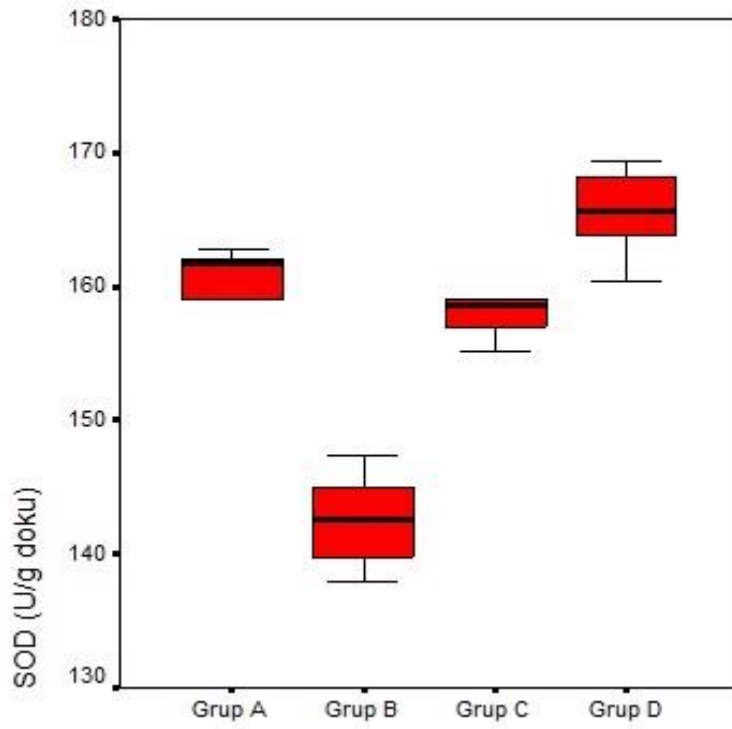
©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org



Şekil 1. Gruplara Göre MDA Düzeyleri

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org



Şekil 2. Gruplara Göre SOD Düzeyleri

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as: Utku ÖG, Karatay E, Ergül B, Demirtaş C, Ekinci Ö, Arhan M. Is The Probiotic Mixture Effective in The Treatment of TNBS-İnduced Experimental Colitis? JAREM 2019; DOI: 10.5152/jarem.2019.2247.

©Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. - Available online at www.jarem.org